

# Bulletin of the Agricultural Chemical Society of Japan.

## CONTENTS

Tokuzo YAGINUMA, Kentaro HAYAKAWA und Gemba ARAI: Über das Norleucin, ... ..	51
Kitsuji NISHIDA und Hideo HASHIMA: Untersuchungen über das Glukomannan aus "Konjak"	
VI. Mitteilung. —Über die konstitution des Glukomannans, ... ..	54
Takeo ITO: Über die Oberflächenaktivität und die Adsorbierbarkeit von Aminosäuren, (III. Mitteilung), ... ..	59
Takeo ITO: Über die Oberflächenaktivität und die Adsorbierbarkeit von Aminosäuren, (IV. Mitteilung), ... ..	62
Hiroshi HASEGAWA and Sei IWATA: Studies on the Variations of the Constituents of Tobacco Plant During its Growth Periods, Part I.—Organic Constituents, ... ..	69
Toyoki ONO: On a Shark egg-oil, ... ..	70
Yoshiaki ISHIZUKA: On the Study of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Absorption and Utilization of Rice Plant at Different Stages of Growth by Means of Water Culture, ... ..	73
Takeo SHIMODAIRA: Studies on the Yeast Growth, ... ..	75
Masuzo SHIKATA and Isamu TACHI: Researches on the Electric Reduction Potentials of Organic Compounds, Part XIII.—Reduction Potential of Azobenzene, ... ..	75
Masuzo SHIKATA and Nobushige HOZAKI: Researches on the Electric Reduction Potentials of Organic Compounds, Part XIV.—Reduction Potentials of Dinitrophenols, ... ..	76
Masuzo SHIKATA and Eiichi TAGUCHI: Researches on the Electric Reduction Potentials of Organic Compounds, Part XV, ... ..	77
Masuzo SHIKATA and Mamoru WATANABE: Chemical Researches on Bog-Moss, Part I.—Chemical Composition of Sphagnum Fimbriatum, Wils., ... ..	77
Hidejiro NISHIKAWA: Biochemistry of Filamentous Fungi, I.—Colouring Matters of Monascus Purpureus Went, Part I, ... ..	78
S. OSUGI and M. AOKI: On Soil-acidity and Electro-dialyzable Aluminium, Iron and Etc., ... ..	79
Kotaro NISHIDA: On the Nitrogenous Constituent of Rice-Vinegar, ... ..	80
Hisaji MURATA: On the Changes of Cyanamide in the Soil, (II).—The Decomposition of Dicyanodiamide and Guanlylurea in Paddy-Soil, ... ..	83

Published by the  
Agricultural Chemical Society of Japan

c/o Faculty of Agriculture, Tokyo Imperial University.

Single Copy (Postage inclusive) :- ¥ 0.35

Annual Subscription (12 numbers) :- ¥ 3.50

## *The Agricultural Chemical Society of Japan.*

President : Kintaro OHSHIMA.

The Council of the Agr. Chem. Soc. of Japan has decided to publish English Abstract of those papers appearing in the Journal in a separate form in order to facilitate the circulation in foreign countries.

Bulletin of the Agr. Chem. Soc. of Japan is published for this purpose from May 1926 monthly. The numbering begins with Vol. 2, No. 5. The earlier parts are represented by the English abstracts published in the Journal annexed to the Japanese texts.

The articles to be appeared in the Bulletin must be concise, supplied with experimental methods and data and understandable, without specially referring to the Japanese texts. It ought, however, not exceed four printed pages as a rule. Any longer articles may be accepted according to the decision of the Council, with or without charge for exceeding pages.

Journal of the Agr. Chem. Soc. of Japan will be published in Japanese as formerly. Those desiring the detailed information of the articles appeared in the Bulletin may look for in the Journal of the same Number or the same Volume.

Editor : Kintaro OHSHIMA.

Associate Editors : Kakuji GOTŌ and Yoshihiko MATSUYAMA.

---



## Über das Norleucin.

Von

Tokuzo YAGINUMA, Kentaro HAYAKAWA, u. Gemba ARAI.

(Eingegangen am 23. Dezem. 1931.)

Das Norleucin, welches künstlich leicht darzustellen ist, wurde in dem Naturprodukt zuerst von E. Abderhalden entdeckt<sup>(1)</sup>; nämlich gibt er an, dass er aus 5 kg der Rückenmarksubstanz der Rinder 2 g reinen Norleucin isolierte.

Zur Nachprüfung dieser Angabe haben die Verfasser nach dem Vorschrift desselben Autors den gleichen Versuch wiederholt, dessen Resultat im folgenden mitgeteilt werden soll.

### (i) Das Norleucin aus Proteinhydrolysat.

5 kg der frischen Rückenmark der Rinder wurden mit konz. HCl hydrolysiert, in Äthylesterchlorhydrat übergeführt, dieses Produkt mit dem Äther überschichtet und in der Eiskälte mit KOH und  $K_2CO_3$  behandelt. Der ätherische Auszug wurde der fraktionierten Destillation unterworfen. Nachdem der bei 100° unter 0.5 mm übergehende Teil möglichst vollkommen abdestilliert wurde, stieg der Siedepunkt verhältnismässig schnell auf 113° (0.5 mm), und das folgende Destillat ging bei eben solchen Bedingungen (113~116°; unter 0.5~0.7 mm) über, nach dessen Abdestillierung sich aber noch bei 140~150° fast nichts überdestillierte.

Die beiden Destillate wurden jedes für sich hydrolysiert, das kristallinische Produkt aus dem ersten Destillat schmeckt bitter, und liess nachweisen, dass es sich fast ausschliesslich aus *l*-Leucin besteht.

Dasjenige aus dem zweiten Destillat wurde der fraktionierten Kristallisation aus Wasser unterworfen, wodurch das 1, 2 und 3 Kristallisat nach einander erhalten wurde.

Das 1. Kristallisat (0.9 g) schmeckt süss, während das 2. und 3. immer weniger süsser war mit dem mehr stärker werdenden bitteren Nachgeschmack.

Wir untersuchten zuerst das 1. Kristallisat.

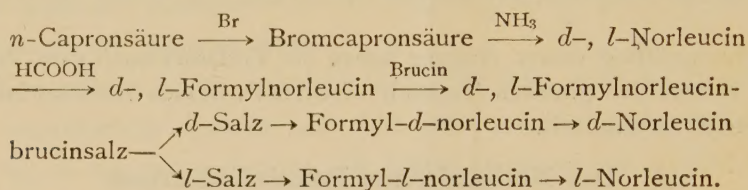
F. P. 276~278° (F. P. des *l*-Leucins nach d. Lit. 293~295°; F. P. des *d*-Norleucin nach d. Lit. 280~282°).

	C %	H %	N %
gefunden	54.60	10.04	10.76
berechnet	54.96	9.92	10.69

Durch die Bestimmung der Brechungsindizes und der Kantenwinkel<sup>(2)</sup> konnte man beweisen, dass die meisten Kristall individualisieren Norleucin (Fig. 1), während daneben einige Kristalle des Leucins vorhanden waren. Nachdem dieselbe Substanz in die Formylverbindung übergeführt wurde, beobachtete man unter dem Polarisationsmikroskop nur einen und einzigen Kristallart, nämlich denjenigen des Formyl-norleucins.

## (ii) Das synthetische Norleucin.

*d*- und *l*-Norleucin wurde nach der Literaturangabe<sup>(3)</sup> dargestellt und gespaltet zu beiden opt. Komponenten :



*d*-*l*-Norleucin, F. P. 297°; (Nach d. Lit. 297~300°),

Amino-N: 10.68%; Theor.: 10.69%

Formyl-*d*-norleucin, F. P. 115~116°; (Lit. 114°),

$[\alpha]_D^{25.0} = -19.0 \pm 1.14^\circ$ ; in Alko., (Lit.  $[\alpha]_D^{20.0} = -15.85^\circ$ ).

Formyl-*l*-norleucin, F. P. 115~116°; (Lit. 114°),

$[\alpha]_D^{25.0} = +17.3 \pm 1.2^\circ$  in Alko., (Lit.  $[\alpha]_D^{20.0} = +15.53^\circ$ ).

*d*-Norleucin, F. P. 270~275°; (Lit. 275~280°),

Amino-N: 10.62%; Theor.: 10.69%

$[\alpha]_D^{25.50} = +18.3 \pm 1.1^\circ$  in 20% HCl, (Lit.  $[\alpha]_D^{20.0} = +18.56^\circ$ ; 20.44°).

*l*-Norleucin, F. P. 275~276°; (Lit. 275~280°),

Amino-N: 10.45%; Theor.: 10.69%

$[\alpha]_D^{25.50} = -21.5 \pm 1.1^\circ$  in 20% HCl, (Lit.  $[\alpha]_D^{20.0} = -21.17^\circ$ ; 20.82°).

Formyl-*l*-leucin wurde nach der gewöhnlichen Methode durch die Behandlung des *l*-Leucins aus Weizen mit der reinen Ameisensäure erhalten, F. P. 142~144°; (Lit. 139~142°).

(iii) Die Krystallkonstanten bestimmt zur Identifizierung sind wie Tafel I.

Die Krystallkonstanten des Formyl-norleucins und des Formyl-leucins wurde bestimmt zum erstenmal.

An Herren Dr. Prof. U. Suzuki und Dr. G. Takahashi mit den herzlichsten Dank für ihre Leitungen und Hinweisen.

(Aus dem chem. Laboratorium der Nihon Daigaku, Tokyo.)

## Literaturausgabe

- (1) E. Abderhalden u. A. Weil: H. 81 (1912), 213~217; H. 84, 49 (1913);  
E. Abderhalden, Fröhlich u. Fuchs: H. 86, 454 (1913).



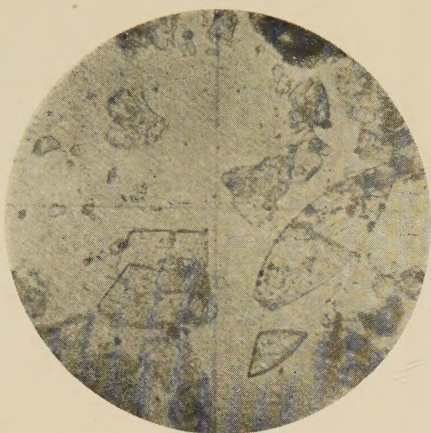


Fig. 1  
*d*-Norleucin aus Rückenmark des Rinders  
(III×5)



Fig. 2  
*d*-Norleucin (synth.)  
(III×5)

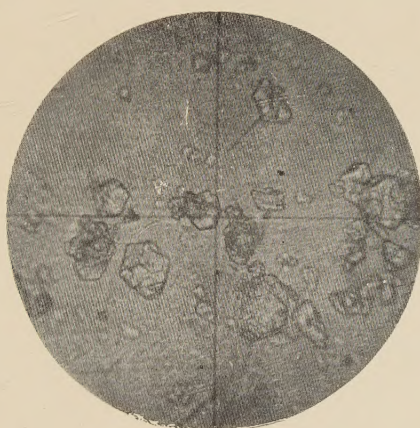


Fig. 3  
*l*-Leucin aus Weizen  
(III×3)

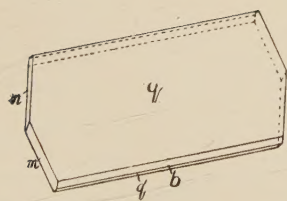


Fig. 4  
*d*-Norleucin

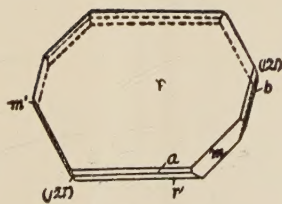


Fig. 5  
*l*-Leucin



Fig. 6  
Formyl-*d*-norleucin

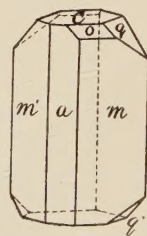



Fig. 6  
Formyl-*l*-leucin



Digitized by the Internet Archive  
in 2024

Tafel I.

		a : b : c	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	V	Achsenene	I-Bis.	Dopp. brech.
Synth. <i>d</i> -Norleucin <sup>(4)</sup>	rhomb.	1.3924 : 1 : 2.8662	1.5074	1.5104	1.5400	18° 0'	{100}	[001]	Pos.
Natürl. <i>d</i> -Norleucin	"	— — —	1.507	1.5104	1.5400	19° 1' (ber.)	{100}	[001]	Pos.
<i>l</i> -Leucin aus Weizen <sup>(5)</sup>	rhomb.	1.5155 : 1 : 1.0035	1.5333	1.5358	1.5512	23° 20'	{100}	[001]	Neg.
<i>l</i> -Leucin aus Rinder	"	— — —	1.533	1.5358	1.551	22° 39' (ber.)	{100}	[001]	Neg.
Synth. Formyl- <i>d</i> -norleucin	rhomb.	0.192 : 1 : $x$	1.4833	1.5068	1.5616	34° 12' (ber.)	{100}	[001]	Pos. (stark)
Formyl- <i>d</i> -norleucin aus Rinder	"	— — —	1.4833	1.5068	1.5616	34° 12' ( " )	{100}	[001]	Pos. ( " )
Formyl- <i>l</i> -leucin aus Weizen	rhomb.	0.9753 : 1 : 0.9254	1.5004	1.5070	1.5182	36° 55' (ber.)	{001}	[100]	Neg.
Formyl- <i>l</i> -leucin aus Rinder	"	— — —	1.500	1.5070	1.518	36° 55' ( " )	{001}	[100]	Neg.



- (2) G. Takahashi, T. Yaginuma und K. Hayakawa: *Proceedings of the Imp. Acad.* VII, No. 2, 57~58 (1931).  
 (3) *loc. cit.*, H. 86, 454 (1913).  
 (4) *loc. cit.*, P. I. A., VII, No. 2, 57~58 (1931).  
 (5) *ibid.*

## Chemische Untersuchungen über das Glukomannan aus "Konjak".

VI. Mitteilung.—Über die Konstitution des Glukomannans.

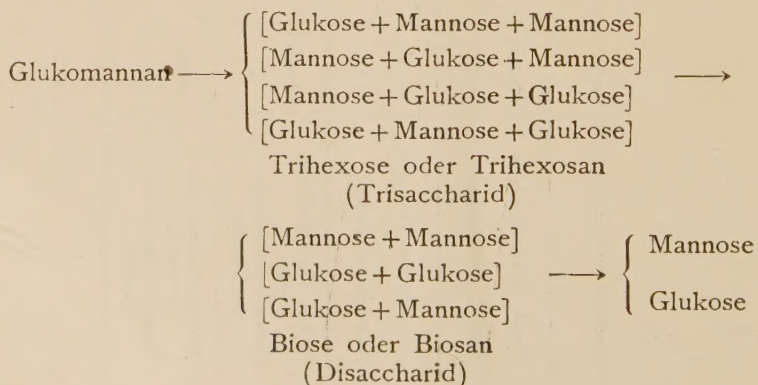
Von

Kitsuji NISHIDA und Hideo HASHIMA.

(Eingegangen am 31, Jan. 1932)

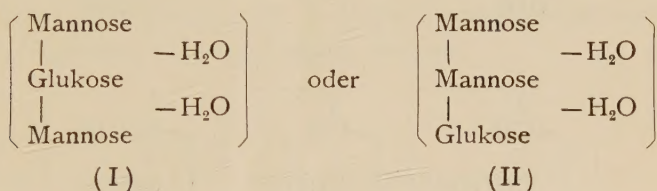
Bei allen Diskussionen über Konstitutionsfragen der Cellulose und anderen polymeren Kohlenhydraten, z. B. Stärke, Lichenin, Inulin, u. a. m., begegnet man verschiedenen Überlegungen. Als Grundkörper der Cellulose stellte K. Hess die Formel  $[C_6H_{10}O_5]$  auf, so dass also die Konstitution der Cellulose durch monomolekulare Glukosan-Moleküle ausgedrückt wird. Im Gegensatz zur Glukosan-Anschauung, gewann die Auffassung festere Form, danach der Grundkörper der Cellose eine Cellobiose ist (Karrer, Freudenberg u. a. m.) und der Konstitution der Cellulose die Formel  $[C_{12}H_{20}O_{10} - H_2O]_x$  zukommt.

Nehmen wir also die von K. Hess aufgestellte monomolekulare Glukosantheorie für die Cellulosekonstitution als richtig an, so ergeben sich 4 artene Trihexosen oder Trihexosane und dann 3 artene Biosen oder Biosane aus Glukomannan durch Acetolyse oder andere Abbauprozesse, z. B. durch Erhitzung in Bombenröhre, durch enzymatische Wirkung, nach folgendem Schema; wenn das Glukomannan aus 2 Mol Mannose und 1 Mol Glukose besteht, dann ist:

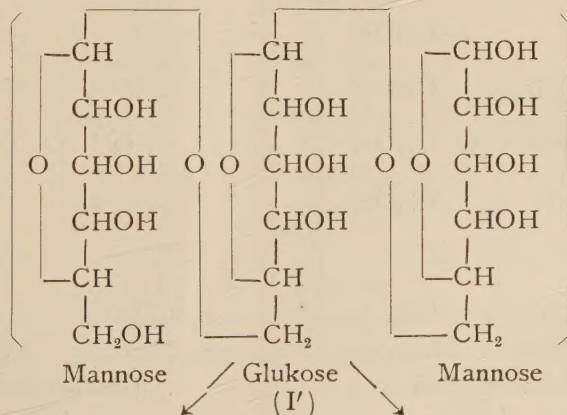


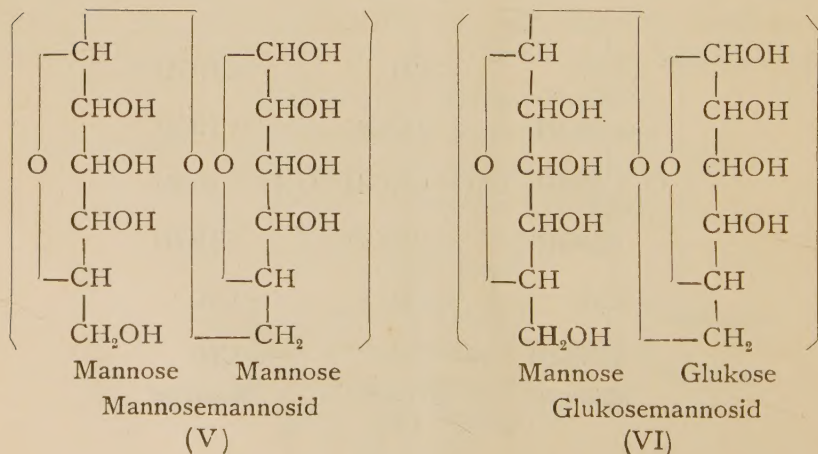
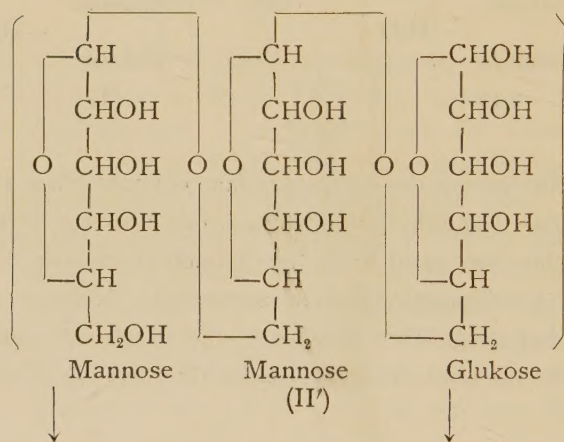
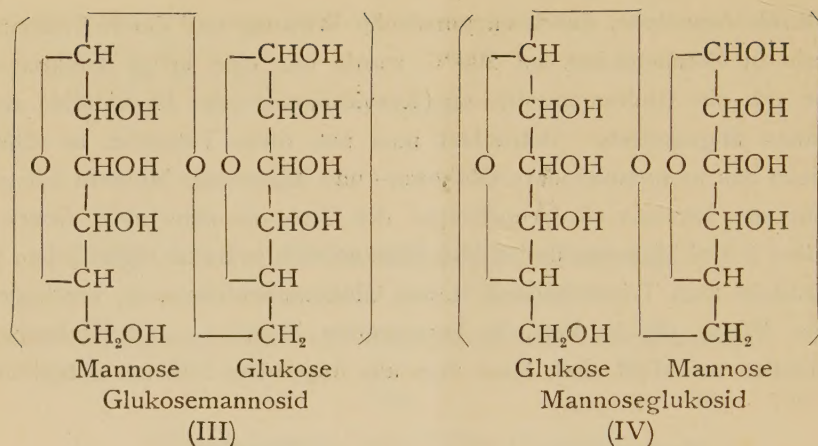


Durch Acetolyse, durch enzymatische Wirkung und durch Erhitzung mit Glyzerin in Bombenröhre auf 200°C wurde nur eine artige Glukomannotrihexose od. ein Glukomannotriosan (Laevidulose oder Laevidulin) aus Glukomannan abgespalten. Betrachtet man nun diese Tatsache, so scheint es, dass man das monomolekulare Glukosan- und Mannosan-Molekül mit gleicher Stellung des Raumes als Grundkörper des Glukomannans nicht fassen kann, aber dass 2 Mol Mannose und 1 Mol Glukose sich in ihrem eigentlichen Raume als Baustein zum Trisaccharid d. h. zur Glukomannotrihexose, vereinigen. In welcher Weise die in Betracht kommenden Mannose- und Glukosegruppen miteinander verknüpft sind, kann man aus folgendem Schema entnehmen:



Bei der Methylierung des Glukomannans entsteht unter Eintreten von drei Methylgruppen das Trimethylglukomannan, das wurde bei der Hydrolyse mit methylalkoholischer Salzsäure in 2, 3, 4-Trimethylmannose, 2, 3, 6-Trimethylmannose und 2, 3, 4-Trimethylglukose zerspalten. Nehmen wir die von dem fünfgliedrigen Ring ausgeführte Glukose- und Mannosekonstitution als richtig an, ergibt sich für die Glukomannotrihexose die folgende Konstitution aus dem obigen Schema.

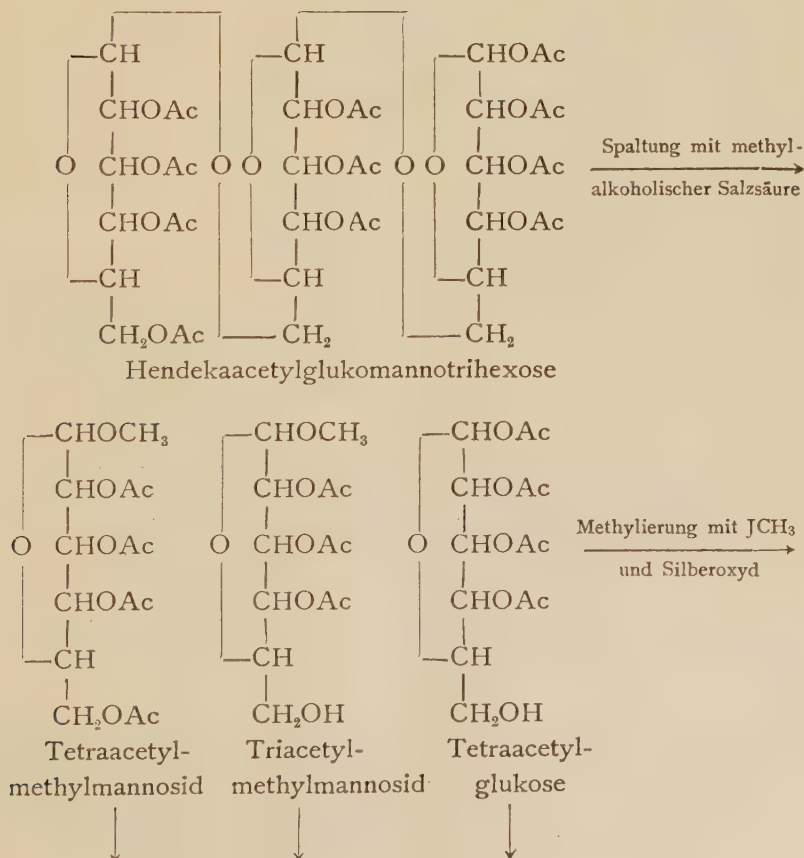


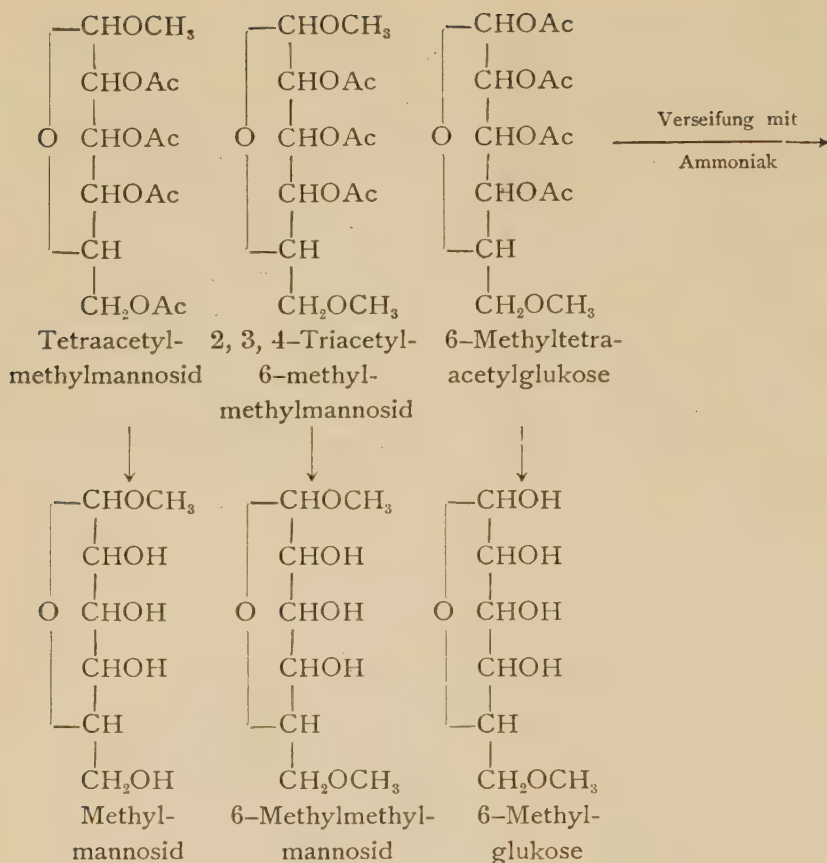




Die Acetolyse des Glukomannans ist schon über den für Hendekaacetylglukomannotrihexose charakteristischen Zustand hinausgegangen und darüber zu sehr viel weiter abgebauten Stoffen (Disacchariden) von kleinerem Molekulargewicht mit höherem Acetylgehalt abgespalten worden, von deren eines (Mannosemannosid) nur die Mannose und das andere (Glukosemannosid) 1 Mol Mannose und 1 Mol Glukose hydrolysierbar ist. Darauf erfolgt die Konstitution der Glukomannotrihexose nach dem II' Schema.

Die Stellung der Mannose und der Glukose in der Glukomannotrihexose (I' oder II') ist auch noch durch weitere Versuche angeführt worden, dafür Hendekaacetylglukomannotrihexose mit 1% iger Salzsäure zu Hexoseacetate gespalten wurde. Man kann die so gewonnenen Hexoseacetate mit Methyljodid und Silberoxyd methylieren, daraus mit methylalkoholischem Ammoniak verseifen. Dabei Methylmannosid, 6-Methylmethylmannosid und 6-Methylglukose nach folgendem Schema erhalten wurden.





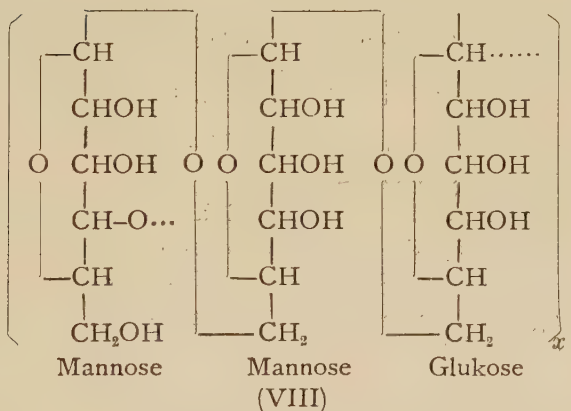
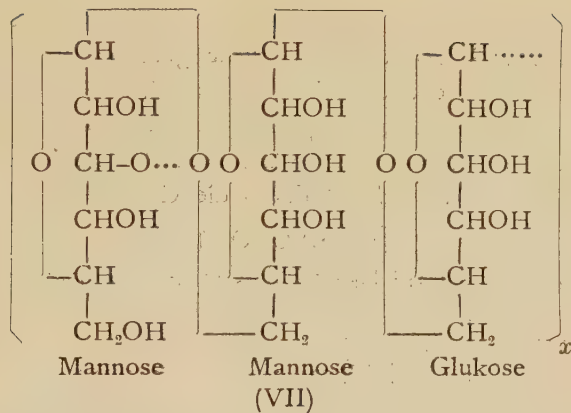
Die Konstanten aus diesen Versuchen ergaben :

Kristall	Sirup-B	Sirup-A
Smp. 173°C (Ausbeute war sehr gering, kristallisierte nur einmal.)	OCH <sub>3</sub> -Gehalt gef. 30.61; 30.38 OCH <sub>3</sub> -Gehalt berechnet für 6-Methylmethylmannosid 30.77 [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> in Alkohol + 70.0 [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> in Alkohol + 54.0* [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> in Wasser + 61.5 [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> in Wasser + 59.6*	OCH <sub>3</sub> -Gehalt gef. 21.75; 21.45 OCH <sub>3</sub> -Gehalt berechnet für 6-Methylglukose 15.98 [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> in Alkohol + 86.9° [α] <sub>D</sub> <sup>20</sup> in Wasser + 75.8°

\* Endwert

Für dieses Ergebnis gibt es nur wenig stichhaltige Argumente, wir konnten daher nicht näher darauf eingehen. Aber aus der oben beschriebenen Acetolyse und Methylierung bestehen für die Konstitution des Glukomannans die folgenden beiden Möglichkeiten (VII und VIII).





Gemäss der neuen Formulierung für Cellubiose und Maltose traten diese als (VIII) Formel ein.

## Über die Oberflächenaktivität und die Adsorbierbarkeit von Aminosäuren.

### III. Mitteilung.

Von

Takeo ITO.

(Aus dem Agrikulturchemischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule Morioka.)

(Eingegangen am 20. März 1932.)

Die Aminosäuren sind bekanntlich amphotere Elektrolyte, indem ihre

Aminogruppe als Base funktioniert, ihre Karboxylgruppe als Säure. Durch Säurezusatz wird ihre Säuredissoziation zurückgedrängt und die Aminosäurekationen werden infolge der Salzbildung vermehrt. Umgekehrt wirkt ein Laugezusatz. Der Dissoziationsrest  $\rho$  einer Aminosäure in wässriger Lösung, d. h. das Verhältnis der Konzentration der neutralen Aminosäuremoleküle zur Gesamtkonzentration, wird bestimmt durch die Gleichung

$$\rho = \frac{[\text{H}_2\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COOH}]}{[\text{H}_2\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COOH}] + [\text{H}_3^+\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COOH}] + [\text{H}_2\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COO}^-]} \\ = \frac{1}{1 + \frac{k_a}{[\text{H}^+]} + \frac{k_b}{k_w} [\text{H}^+]}} \quad (1)$$

worin  $k_a$  die Säure- und  $k_b$  die Basendissoziationskonstante der Aminosäure bedeuten,  $k_w$  die Dissoziationskonstante des Wassers. Gemäss dieser Gleichung wird  $\rho$  ein Maximum bei der  $[\text{H}^+] = \sqrt{\frac{k_a}{k_b} k_w}$  zeigen, also im isoelektrischen Punkt, wo  $[\text{H}_3^+\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COOH}] = [\text{H}_2\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COO}^-]$  ist. (L. Michaelis, Die Wasserstoffionenkonzentration I., 2. Aufl., 1922).

Nun es ist auf Grund der bisherigen Erfahrungen im allgemeinen erkannt, dass in wässriger Lösung die Fettsäuren oder die Aminen wesentlich höher oberflächenaktiv sind als ihre Salze. Demgemäss wäre zu erwarten, dass eine Aminosäurelösung bei der konstant gehaltenen Konzentration und der wechselnden Wasserstoffionenaktivität im isoelektrischen Punkt am stärksten oberflächenaktiv sein muss, denn sie enthält gerade in diesem Punkt den maximalen Anteil der undissoziierten Aminosäuremoleküle. Die vorliegende Untersuchung lehrt aber, dass die Oberflächenspannung der wässrigen Lösungen der oberflächenaktiven Aminosäuren auf der stark sauer Seite am niedrigsten liegt, um sich sodann mit abnehmender  $\text{H}^+$ -Ionenaktivität zu erhöhen. Es folgt demnach, vom Standpunkt der erwähnten Anschauungsweise betrachtet, dass die Oberflächenaktivität in der folgenden Reihenfolge fällt:



was mit der erwähnten Erkenntnis, dass die undissoziierten Moleküle der schwachen Elektrolyte wesentlich höher oberflächenaktiv sind als ihre Ionen, nicht im Einklang stehen würde.

N. Bjerrum hat es neuerdings als wahrscheinlich erwiesen, dass die aliphatischen Aminosäuren im undissoziierten Zustande fast ausschliesslich als salzartige Zwitterionen ( $\text{H}_3^+\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COO}^-$ ) vorhanden sind (Z. physik. Chem. 104, 147, 1923). Die Dissoziationsprozesse einer Aminosäure werden nach dieser Anschauung im Sinne der folgenden Gleichungen dargestellt:





und  $\text{H}_2\text{O} + \text{H}_2\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COO}^- = \text{H}_3^+\text{N}\cdot\text{R}\cdot\text{COO}^- + \text{OH}^-$  (3)

Die Säure- und Basendissoziationskonstanten,  $K_S$  und  $K_B$ , die den Gleichungen (2) und (3) entsprechen, stehen mit den alten Dissoziationskonstanten in folgenden Verhältnissen:

$$K_S = k_w/k_b \quad \text{und} \quad K_B = k_w/k_a.$$

Es ist allerdings "für die Berechnung des Gleichgewichtes zwischen Kationen, Anionen und elektrisch neutralen Molekülen gleichgültig, ob man von der älteren oder der neueren Anschauung ausgeht". So wird der Dissoziationsrest  $\rho$ , welcher numehr als das Verhältnis von Zwitterionenkonzentration zur Gesamtkonzentration aufgefasst werden muss, durch dieselbe Gleichung wie (1) angegeben. Vom Standpunkt dieser neueren Anschauungsweise betrachtet, muss die oben angeführte Bezeichnungsweise für die Reihenfolge der Oberflächenaktivität korrigiert werden in

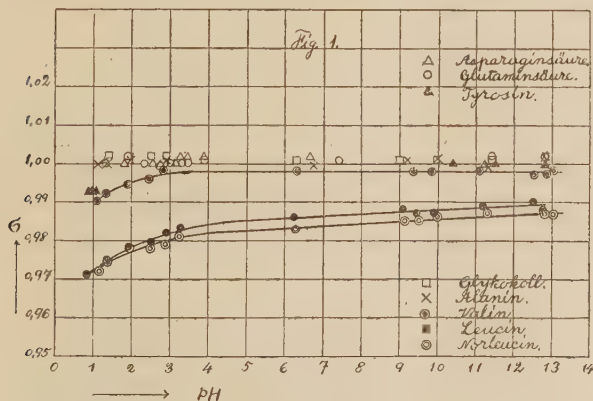


die uns erscheint plausibler zu sein.

Für die Versuche wurden stets 0.05 mol. Aminosäurelösungen, deren  $\text{H}^+$ -Ionenaktivität durch  $\text{HCl}$ - bzw.  $\text{NaOH}$ -Zusatz variiert worden war, verwendet. Die Oberflächenspannung wurde mit Hilfe von Tropfenmethode gemessen, indem man ein Stalagmometer nach Trabe (Firma C. Gerhardt) benutzte. Die  $\text{H}^+$ -Ionenaktivität wurde potentiometrisch bestimmt, indem man sich einer Chinhydronelektrode auf der sauren Seite und einer  $\text{H}$ -Elektrode auf der alkalischen Seite bediente.

Versuchstemperatur betrug  $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$ .

Die Ergebnisse sind in Fig. 1 graphisch zusammengestellt, wobei als Ordinate die relative Oberflächenspannung  $\sigma$  ( $\sigma_{\text{H}_2\text{O}} = 1$ ) zugeordnet ist, als Abszisse pH.



worden sind (Ito: diese Zeitschr., 6, 13, 1930).

Die relative Oberflächenspannung der Lösungen von Valin, Leucin und

Hieraus ist zu ersehen, dass Glykokoll, Alanin, Asparagin- und Glutaminsäure die Oberflächenspannung des Wassers, unabhängig vom pH, kaum beeinflussen. Es sei in diesem Zusammenhang darauf aufmerksam gemacht, dass die sämtlichen genannten Aminosäuren in rein wässriger Lösung als oberflächeninaktiv bestätigt

Norleucin ist, wie aus der Figur ersichtlich, am kleinsten auf der stark sauren Seite; mit zunehmendem pH wächst sie anfangs stark dann nur allmählich, bleibt aber stets kleiner als 1.

Aus dem Gesagten darf man erschliessen, dass die erstgenannten Aminosäuren bei einer Konzentration von 0.5 m. die Oberflächenspannung des Wassers fast gar nicht beeinflussen gleichgültig, ob sie als elektrisch neutrale Moleküle oder als Ionen vorhanden sind, während die letztgenannten dagegen sowohl im elektrisch neutralen als auch im dissoziierten Zustande oberflächenaktiv sind, und zwar in der schon erwähnten Reihenfolge.

Ferner sieht man, dass Tyrosin nur als Kation merklich oberflächenaktiv ist.

Wenn man nun die Oberflächenaktivitäten der jeden einzelnen Amino-monocarbonsäuren bei einem bestimmten pH vergleicht, so erkennt man stets die folgende Reihe:

Norleucin > Leucin > Valin > Alanin, Glykokoll.

---

## Über die Oberflächenaktivität und die Adsorbierbarkeit von Aminosäuren.

### IV. Mitteilung.

Von

Takeo ITO und Kimio KATSUMATA.

(Aus dem Agrikulturchemischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule Morioka.)

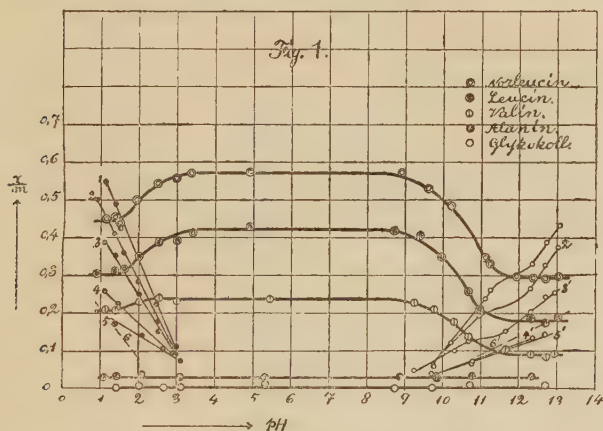
(Eingegangen am 20. März 1932)

Nach Fromageot und Wurmser (Compt. rend., 179, 972, 1924) gibt es keine "einfache Beziehung" zwischen der Adsorbierbarkeit der Fettsäuren an Kohle und ihren Dissoziationskonstanten, obwohl die freien Säuren bekanntlich stärker adsorbierbar sind als ihre Salze. In neuester Zeit haben Phelps und Peters (Proc. Roy. Soc. London, A. 124, 554, 1929) untersucht über die Adsorption von Fettsäuren, Aminen und einigen Aminosäuren an dem nach Miller gereinigten Norit in Zusammenhang mit der  $H^+$ -Ionenaktivität. Sie gelangen zu dem Schluss, dass die schwachen Elektrolyte nicht als Ionen, sondern nur durch Vermittlung der undissoziierten Moleküle adsorbierbar sind. In dieser Arbeit haben wir die Beziehung zwischen der Adsorption der Aminosäuren an Kohle (E. Merck, Carbo animalis pur. sicc.; Aschengehalt = 2.17%) und der  $H^+$ -Ionenaktivität untersucht. Unsere Resultate stimmen zwar mit denen der genannten Autoren insofern überein, als hier die elektrisch



neutralen Moleküle am stärksten adsorbierbar sind. Die Aminosäureionen sind jedoch, wie wir glauben, auch adsorbierbar. Dies dürfte wenigstens dann nicht überraschend sein, wenn man bedenkt, dass einige oberflächenaktive Aminosäuren ungeachtet der  $H^+$ -Ionenaktivität die Oberflächenspannung des Wassers erniedrigen, wenn auch in verschiedenem Masse (vgl. III. Mitt.).

1. Als Versuchslösungen wurden stets 0.05 mol. Aminosäurelösungen, deren  $H^+$ -Ionenaktivität durch HCl- bzw. NaOH-Zusatz variiert worden war, verwendet. Es wurden sowohl die Adsorption der Aminosäure als auch die der  $Cl^-$ - bzw.  $Na^+$ -Ionen bestimmt. 2,500 g. Kohle wurden in einen kleinen mit eingeschiffenem Glasstopfen verschliessbaren Erlenmyerkolben genau eingewogen und mit 50 cc. Versuchslösung zusammengebracht. Nach 20 Minuten Schütteln im Thermostat bei  $18 \pm 0.1^\circ C$  wurde die Kohle abzentrifugiert. Hierauf wurden die Lösungen vor und nach der Adsorption analysiert und daraus die adsorbierten Mengen der Aminosäure und des  $Cl^-$ - bzw.  $Na^+$ -Ions ermittelt. Dabei wurde die Aminosäure nach van Slyke, Chlor massanalytisch nach Volhard und Natrium gravimetrisch als  $Na_2SO_4$  bestimmt. Gleichzeitig wurde die  $H^+$ -Ionenaktivität potentiometrisch bestimmt. In Fig. 1 sind die



Ionen.

Kurve 1 bzw. 1'	zeigt den Adsorptionsverlauf des $Cl^-$ - bzw. $Na^+$ -Ions	
		bei Anwesenheit von Norleucin,
Kurve 2 bzw. 2'	"	" Leucin,
Kurve 3 bzw. 3'	"	" Valin,
Kurve 4 bzw. 4'	"	" Alanin,
Kurve 5 bzw. 5'	"	" Glykokoll,
Kurve 6 (gestrichelte Linie, links)	zeigt den Adsorptionsverlauf des	
	$Cl^-$ -Ions aus HCl-Lösung,	
Kurve 6' ( " , rechts)	" " " " Na $^+$ -Ions " NaOH-Lösung.	

Man sieht, dass Glykokoll und Alanin, wie schon Phelps und Peters (l. c.) nachgewiesen haben, kaum adsorbiert werden, und zwar unabhängig

Resultate der Versuche mit Aminomonocarbonsäuren graphisch zusammengestellt, wobei als Ordinaten die adsorbierten Mengen in Millimol/g. Kohle, als Abszissen die pH der Gleichgewichtslösungen aufgetragen sind.

Hier stellen die dick ausgezogenen Linien die Adsorptionskurven für die Aminosäuren dar, die anderen die für  $Cl^-$ - bzw.  $Na^+$ -

vom pH. Die Kurven für Valin, Leucin und Norleucin haben, wie aus der Figur ersichtlich, denselben Verlaufstypus, indem jede einen Maximerhebungsanteil zeigt, der sich über ein ziemlich weites Gebiet, welches den isoelektrischen Punkt (pHI\*) einschliesst, erstreckt. Es wäre von Interesse, derartigen Adsorptionsverlauf mit Hilfe der Gleichung

$$\rho = \frac{1}{1 + \frac{k_a}{[H^+]} + \frac{k_b}{k_w} [H^+]} \quad (1)$$

näher zu erörtern.

Hierin bedeuten:

$\rho$  den Dissoziationsrest,  $k_a$  und  $k_b$  die Säure- und Basen-dissoziationskonstante der Aminosäure und  $k_w$  die Dissoziationskonstante des Wassers.

Als Beispiel hierfür führen wir Norleucin an. Die Ergebnisse der Versuche mit demselben sind in Tabelle 1 zahlenmässig wiedergegeben.

Tabelle 1.

Adsorption aus den Lösungen: 0.05 m. Norleucin + c-Mol HCl bzw. NaOH,  $t=18^\circ\text{C}$ .

HCl bzw. NaOH c-Mol/L.	pH		Konzentration von Norleucin nach d. Ads. $C_N$ in Mol. i. L.	Adsorbierte Menge in Millimol/g. Kohle.	
	vor d. Ads.	nach d. Ads.		Norleucin	Cl <sup>-</sup> bzw. Na <sup>+</sup>
0.15 HCl	1.13	1.15	0.0276	0.448	0.547 Cl <sup>-</sup>
0.1	1.36	1.39	0.0273	0.454	0.492
0.075	1.49	1.50	0.0281	0.438	0.424
0.05	1.93	1.94	0.0250	0.499	0.354
0.025	2.46	2.47	0.0228	0.543	0.225
0.0125	2.91	2.97	0.0221	0.557	0.112
0.00625	3.23	3.39	0.0214	0.571	—
0	6.32	4.93	0.0213	0.574	—
0.00625 NaOH	9.18	8.89	0.0213	0.573	—
0.0125	9.48	9.61	0.0234	0.531	0.062 Na <sup>+</sup>
0.025	9.99	10.21	0.0258	0.484	0.120
0.045	10.93	11.13	0.0326	0.348	0.236
0.05	11.31	11.23	0.0333	0.333	0.260
0.06	12.16	11.94	0.0351	0.298	0.302
0.075	12.54	12.38	0.0353	0.294	0.332
0.1	12.79	12.71	0.0354	0.292	0.389
0.15	13.06	13.04	0.0351	0.298	0.433

\* Die pHI der drei angeführten Aminosäuren sind für  $25^\circ\text{C}$  sämtlich gleich etwa 6 (P. L. Kirk und C. L. A. Schmidt, J. Biol. Chem. **81**, 237, 1929; vgl. ferner Wo. Pauli und E. Valkó, Elektrochemie d. Kolloide, S. 376). Für  $18^\circ\text{C}$  dürften sie nicht weit verschieden von 6 sein. z. B. wurde für Norleucin aus Daten in Tab. 1 berechnet zu  $k_a = 1.06 \times 10^{-10}$  und zu  $k_b = 1.77 \times 10^{-12}$ . Für  $k_w$  bei  $18^\circ\text{C}$  mit dem Wert  $10^{-14}$ ,<sup>13</sup> gerechnet, erhalten wir  $\text{pHI} = 1/2 (\text{p}k_a + \text{p}k_w - \text{p}k_b) = 6.17$ .

Aus den Zahlenwerten für pH (3. Spalte) und für die Konzentration  $C_N$  von Norleucin (4. Spalte), beide bezogen auf die Gleichgewichtslösungen, in der Tabelle 1 können wir nach der Gleichung (1) die Konzentration  $C_n (= \rho C_N)$  der elektrisch neutralen Norleucinmoleküle in der Gleichgewichtslösung berechnen.

Diese in die Gleichung

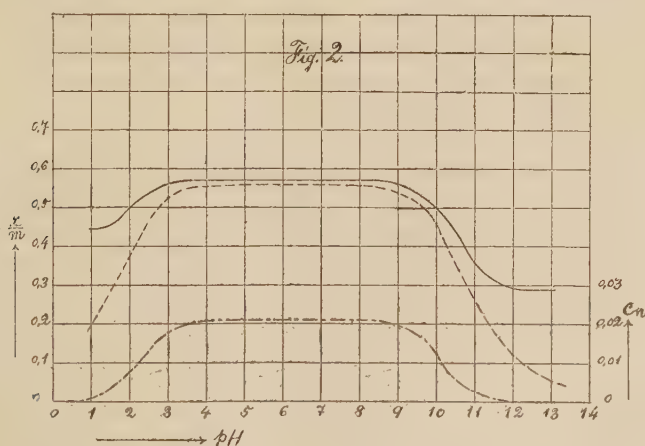
$$x/m = 2.27 C^{0.364} \quad (2)$$

an Stelle von  $C$  eingesetzt, erhalten wir die Grösse  $x_n/m$ , die annäherungsweise die adsorbierte Menge des neutralen Norleucinmoleküls bei betreffendem pH angeben wird.

Die Adsorptionsformel (2) wurde allerdings aus den Resultaten der Adsorptionsversuche mit rein wässrigen Norleucinlösungen ermittelt, wobei als Adsorbens dieselbe Kohle wie in der vorstehenden Untersuchung verwendet worden war.

Da Norleucin mit seinen recht kleinen  $k_a$ - und  $k_b$ -Werten in rein wässriger Lösung fast ausschliesslich als elektrisch neutrale Moleküle vorhanden ist, so sind wir imstande die Gleichung (2) als eine Adsorptionsformel für diese anzusehen.

Wir sind gewiss darüber klar, dass diese Gleichung auf dem obwaltenden Problem deshalb nur bedingt anwendbar ist, weil man hier in der Lösung die neben neutralen Norleucinmolekülen vorhandenen anderen Molekülarten (bzw. Ionenarten), die ebenfalls adsorbierbar und den Wechselwirkungen mit den ersteren zugänglich sein dürften, mit in Betracht ziehen muss. Vielmehr dürfte sie nur eine näherungsweise Mitteilung der adsorbierten Menge des neutralen Norleucinmoleküls gestatten.



In Fig. 2 ist  $x_n/m$ -pH-Kurve (gestrichelte Linie) neben der experimentell ermittelten Adsorptionskurve (ausgezogene Linie) wiedergegeben, gleichzeitig

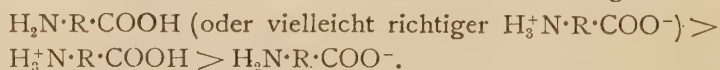


ist  $C_n$ -pH-Kurve (strichpunktierte Linie) mit eingezeichnet. Man sieht, dass die beiden erstgenannten Kurven im Gebiete der Maximerhebung nahezu zusammenfallen. Hieraus folgt, dass Norleucin in diesem Gebiete (pH=etwa 3 bis 10) vorwiegend als neutrale Moleküle adsorbiert wird. Ausserhalb dieses Gebietes gehen die beiden Kurven mit ab- bzw. zunehmendem pH immer weiter voneinander ab. Unter Berücksichtigung der gleichzeitig erhöhten Adsorption von  $\text{Cl}^-$ - bzw.  $\text{Na}^+$ -Ionen (s. Fig. 1, Kurve 1 und 1') dürfen wir folgern, dass Norleucin auch als Kationen oder Anionen adsorbiert werden kann. Dass die beiden Endteilen der Adsorptionskurve zur Abszisse parallel verlaufen, könnte dadurch gedeutet werden, dass hier Norleucin vorwiegend als Kationen oder Anionen, deren Konzentration in der Gleichgewichtslösungen infolge der Anwesenheit von hinreichend grossem Überschuss von  $\text{H}^+$ - bzw.  $\text{OH}^-$ -Ionen nahezu konstant bleibt, adsorbiert werden.

Ferner geht aus Fig. 1 hervor, dass die Adsorption von  $\text{Cl}^-$ - bzw.  $\text{Na}^+$ -Ionen um so mehr begünstigt wird, je stärker die gleichzeitig in der Lösung vorhandene Aminosäure adsorbierbar ist. Obwohl sie an und für sich wenig kapillaraktiv sind, werden sie von den stärker adsorbierbaren  $\text{H}^+$ - bzw.  $\text{OH}^-$ -Ionen, und vor allem von den kapillaraktiven Aminosäureionen mit an die Oberfläche der Kohle gezogen.

Zusammenfassend können wir schliessen, dass die sämtlichen untersuchten oberflächenaktiven Aminosäuren am stärksten in einem ziemlich weiten den isoelektrischen Punkt einschliessenden Gebiet durch kohle aufgenommen werden, und zwar fast ausschliesslich als elektrisch neutrale Moleküle. Im stark sauren oder alkalischen Gebiet werden sie hauptsächlich als Kationen oder als Anionen adsorbiert.

Es besteht für die Adsorbierbarkeiten des neutralen Moleküls, des Kations und des Anions einer oberflächenaktiven Aminosäure die folgende Reihenfolge:



Hier fehlt also der gewöhnlich beobachtete Parallelismus zwischen der Oberflächenaktivität und der Adsorbierbarkeit an Kohle (vgl. III. Mitt.).

Hingegen findet dieselbe Regelmässigkeit wie bei der Oberflächenaktivität auch hier statt, wenn bei einem bestimmten pH die Adsorbierbarkeiten der einzelnen Aminomonocarbonsäuren miteinander verglichen werden.

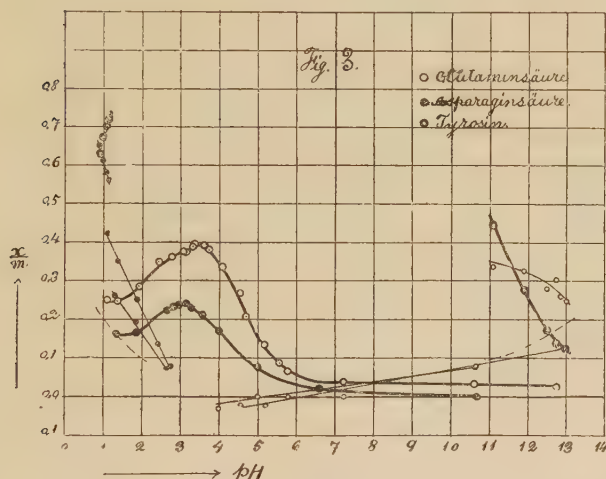
Die Reihenfolge der Adsorbierbarkeit lautet:



Schliesslich sei noch darauf hingewiesen, dass die Auffassung, derzufolge eine Pufferlösung sich bei Behandlung mit Kohle, infolge deren Ampholytoidnatur, der Neutralität nähern soll, nicht immer zutreffend ist (vgl. L. Michaelis: Die Wasserstoffionenkonzentration I, 2. Aufl., S. 209, 1922). Denn,

obwohl diese freilich in den meisten untersuchten Fällen als zutreffend bestätigt worden ist, doch konnten wir feststellen, dass alkalische Norleucinlösungen bei gewissen pH, wie aus Tabelle 1 ersichtlich, durch Zusammenbringen mit Kohle mehr alkalisch werden. Ähnliches wurde auch bei Leucin beobachtet.

2. Asparagin- und Glutaminsäure sollen nach Phelps und Peters (l. c.) durch das gereinigte Norit nur wenig adsorbiert werden, wobei sie eine Tendenz zu einer Minimumadsorption bei pH=etwa 5 aufweisen. Aus unseren Versuchen ergibt sich aber, dass sie, wie aus Fig. 3 ersichtlich, eine deutliche



Maximumadsorption im pH zeigen. Übrigens werden sie als Anionen kaum adsorbiert.

An Tyrosin sind die Versuche, wegen seiner geringen Löslichkeit, nur beschränkt ausgeführt worden. Indessen deuten die Verläufe der Kurvenstücke für Tyrosin in Fig. 3 darauf hin, dass es auch im pH am stärksten adsorbiert werde. Auffallend ist, dass die Adsorptionskurve für Na<sup>+</sup>-

Ion bei Anwesenheit von Tyrosin, im Gegensatz zu den übrigen Fällen, mit zunehmendem pH abfällt. Dies dürfte darauf zurückzuführen sein, dass einwertiges  $\text{HO}-\langle \text{Benzolring} \rangle-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COO}^-$  erheblich stärker adsorbierbar ist als zwei-

wertig  $^-\text{O}-\langle \text{Benzolring} \rangle-\text{CH}_2-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COO}^-$ , welches letztere, wie aus auf Grund der

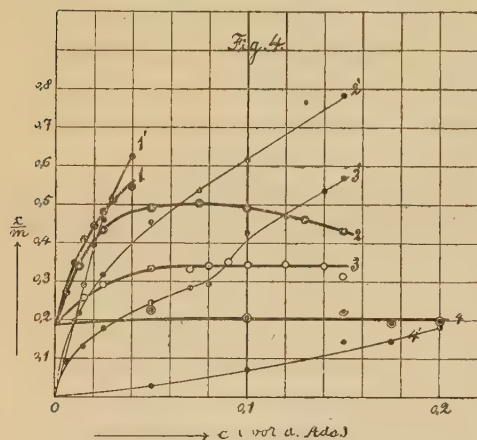
von Kirk und Schmidt (l. c.) angegebenen Daten durchgeführten Berechnungen hervorgeht, bei zunehmendem pH auf Kosten des ersteren zunimmt und bei z. B. pH=13 den fast ganzen Anteil des in der Lösung vorhandenen Tyrosins ausmacht.

3. Wenn eine HCl-Lösung von konstant gehaltener Konzentration mit wachsender Menge Aminosäure versetzt werden wird, so wird die H<sup>+</sup>-Ionenkonzentration der Lösung in dem Masse abnehmen, als die Menge des Aminosäurekations zunimmt, die bei hinreichend grossem Zusatz der Aminosäure einem konstant bleibenden Endwerte zustreben wird. Dabei wird die Cl<sup>-</sup>-Ionenkonzentration stets nahezu konstant bleiben. Ähnliche Betrachtung lässt sich auch für den Fall anstellen, wo einer NaOH-Lösung steigende Menge

Aminosäure hinzugefügt wird.

Wenn nun die an sich schwach adsorbierbaren  $\text{Cl}^-$ - bzw.  $\text{Na}^+$ -Ionen von den stärker adsorbierbaren Aminosäureionen und  $\text{H}^+$ - bzw.  $\text{OH}^-$ -Ionen an die Kohlenoberfläche mitgeschleppt werden sollen, so liegt es nahe, zu vermuten, dass die Adsorption der ersteren aus den oben erwähnten Lösungen ab- oder zunehmen werde, je nachdem die betreffenden Aminosäureionen schwächer oder stärker adsorbierbar sind.

Fig. 4 gibt die Resultate der Adsorptionsversuche mit 0,1 N. HCl bei



steigendem Zusatz von verschiedenen Aminosäuren. Als Ordinaten sind die adsorbierten Mengen in Millimol/g Kohle aufgetragen, als Abszissen die Konzentrationen  $C$  der zugesetzten Aminosäuren vor der Adsorption.

Hier stellen die dick ausgezogenen Linien die Adsorptionskurven für  $\text{Cl}^-$ -Ion bei Anwesenheit von Tyrosin (1), Norleucin (2), Glutaminsäure (3) oder Alanin (4) dar, die anderen die für die betreffenden Aminosäuren. Man sieht, dass die  $\text{Cl}^-$ -Adsorption durch die Anwesen-

heit von stark adsorbierbarem Tyrosin erheblich gesteigert wird. Auffallend ist, dass die  $\text{Cl}^-$ -Kurve bei Anwesenheit von Norleucin durch ein Maximum geht, um dann wieder allmählich abzufallen. Man könnte sich den Vorgang so vorstellen, dass die vermehrte Zugabe von Norleucin anfangs immer neues Norleucinkation auf Kosten des  $\text{H}^+$ -Ions in der Lösung schafft und somit zunehmende Adsorption des ersteren und abnehmende Adsorption des letzteren hervorbringt. Da die Adsorbierbarkeit des Norleucinkations die des  $\text{H}^+$ -Ions weit übertrifft, so nimmt die durch die beiden bedingte  $\text{Cl}^-$ -Adsorption stetig zu. Setzen wir nun nach erreichtem Maximum der  $\text{Cl}^-$ -Adsorption noch mehr Norleucin hinzu, so wird nunmehr die Adsorption von neutralen Norleucinmolekülen in immer steigendem Mass stattfinden. Diese werden die Norleucinkationen von der Kohlenoberfläche mehr oder weniger verdrängen und dadurch die Abnahme der  $\text{Cl}^-$ -Adsorption bedingen. Solche Verdrängungswirkung—über deren Mechanismus sei vorläufig dahingestellt—scheint bei weniger kapillaraktiver Glutaminsäure nicht ausgeprägt zu sein. Dass die  $\text{Cl}^-$ -Kurve (3) in Anwesenheit von Glutaminsäure nach merklichem Ansteigen zur Abszisse parallel verläuft, dürfte eher daraus hervorgehen, dass hier die  $\text{Cl}^-$ -Iononen bei steigendem pH ebenso stark abnehmend als HCl, wie zu-



nehmend als Glutaminsäureshydrochlorid adsorbiert werden.

Ferner ersieht man aus Fig. 4, dass sich das Schnittpunkt der Kurve für  $\text{Cl}^-$ -Ion und für die entsprechende Aminosäure mit steigendem Adsorbierbarkeit der letzteren nach kleineren  $C$  verschiebt, und zwar, mit Ausnahme des Falls von Alanin, auf der linken Seite des Äquivalenzpunktes ( $C=0.1$ ). Es handelt sich hier also um hydrolytische Adsorption, die um so ausgeprägter ist, je stärker die betreffende Aminosäure adsorbierbar ist.

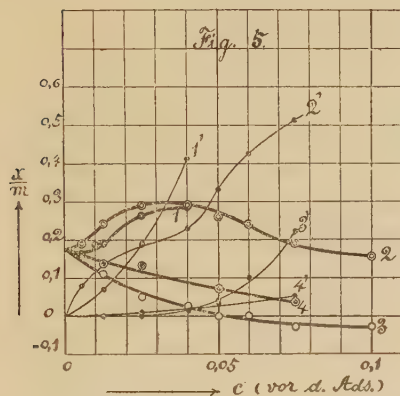


Fig. 5 stellt die Resultate der analogen Versuche mit 0.05 N. NaOH dar.

Die Adsorptionsverläufe des  $\text{Na}^+$ -Ions bei Anwesenheit von Tyrosin (Kurve 1) oder Norleucin (Kurve 2) dürften sich in der ähnlichen Weise wie oben erklären lassen. Dass die Adsorptionskurven für  $\text{Na}^+$ -Ion bei steigendem Zusatz von Glutaminsäure (Kurve 3) oder Alanin (Kurve 4) abfallen, ist offenbar darauf zurückzuführen, dass die Natriumsalze der genannten Aminosäuren nur sehr wenig adsorbierbar sind.

## Studies on the Variations of the Constituents of Tobacco Plant During its Growth Periods.

### Part I. Organic Constituents.

By

Hiroshi HASEGAWA and Sei IWATA.

(Received Feb. 2, 1932.)

### Summary.

1. The purpose of the present investigation is to secure the basis for rational treatment in manuring and harvesting tobacco plants.

2. The material for this investigation is a negative sort of cultivated tobacco, called "Hatanoshu". The experiments were conducted through five growth periods with fourteen kinds of sampling, thus covering the whole developmental stages of the plant concerned, viz.

A. Seeds.

B. Seedlings (17 days after sowing and 10 days after germination.)

- C. Young plant, suitable for transplanting (56 days after germination.)
- D. Plant in the stage of topping (77 days after transplanting.)
  - a. Leaves.    b. Stem.    c. Root.    d. Flower stalk.
- E. Mature plant, suitable for harvesting (103 days after transplanting.)
  - a. Lower leaves (so-called "Doha" or "Lugs".)
  - b. Sub-principal leaves (so-called "Chûha" or "Cutter".)
  - c. Principal leaves (so-called "Hompa" or "Leaves".)
  - d. Upper leaves (so-called "Tempa" or "Lips".)
  - e. Stem.
  - f. Root.
  - g. Flower stalk and axillary buds.

3. Analytical determinations of the organic constituents were carried out after the methods of Kissling and also of Schlösing. The results were given for the following items: the weights of fresh and dry matter; the amounts of total-N, ammonia-N, nitric acid-N, amido-N, protein-N, nicotine-N, malic acid, citric acid, oxalic acid, acetic acid, tannin, pectinic matter, starch, glucose, succrose, dextrin, crude fibre and crude fat, each in percentages of fresh and dry weights of above mentioned samples. Calculations were also made for the content of these constituents in each one plant.

4. The most interesting result was obtained concerning the variation of nitrogenous compounds. Some peculiar features were also observed in the variations of such non-nitrogenous constituents as pectinic matter, organic acids, tannin, sugars, starch, dextrin and fibre.

### On a Shark egg-oil.

By

Toyoki ONO.

(Received Feb. 15, 1932)

The Analysis of the egg-oil of *Heptranchias deani* Jordan and Starks was carried out.

Egg-oil was prepared from fresh by extraction with alcohol and ether, therefore contains somewhat phosphatides as lecithin. The general characteristics of oil are as follows:

Sp. gr. (at 30°C) .....	0.9220	Saponification value .....	171.26
Refract index (40°C) .....	1.4520	Reichert-Meissle value .....	2.9
Acid value .....	6.70	Acetyl value .....	21.08
Iodine value .....	144.43	Unsaponifiable matter .....	11.66%

### Separation of mixed fatty acids.

Mixed acid were prepared from the soap solution of egg-oil by decomposition with  $H_2SO_4$ , and refined from ether solution: the separation of mixed acid into the saturated and unsaturated acids followed the Varrentrapp's method based on the different solubility for ether of both acid-lead salts. The yield was the former 21.4%, the latter 78%, the experimental loss 0.6%.

#### 1. Saturated acids.

The composition of saturated acids was examined by the Heintz's fractional precipitation method of acid magnesium salt from alcohol: The combination-results obtained from three experiments are shown in the following table.

Fraction	Yield (g.)	m. pt. ( $^{\circ}C$ )	Neutral Value	Mean mol. Weight
1	0.2810	56.5	206.9	271.2
2	0.5323	58.0	214.7	261.3
3	0.4431	57.5	217.8	257.5
4	0.4155	57.5	216.6	259.5
5	0.3674	58.0	218.1	261.8
6	0.3851	57.0	214.1	262.1
7	0.2143	56.5	212.1	264.6
8	0.2051	56.0	210.8	266.1
9	0.1260	55.5	209.0	268.4

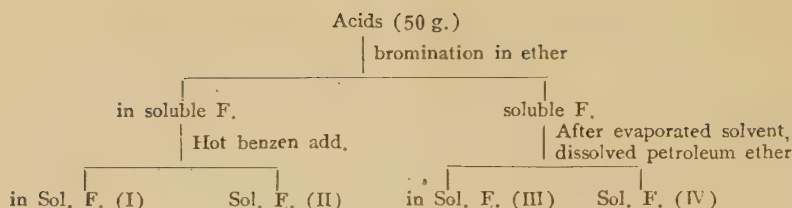
This results show that the saturated acid consist mainly of the acid of melting point  $57\sim 58^{\circ}C$  (*isopalmitic acid*), small amount of stearic acid and palmitic acid; the existence of iso-palmitic acid has been previously proved by many authors; my following experiment will prove its presence in analysed egg-oil:

Exp. (1)	Shark-Solid acid (m. pt. $57.5$ )				Exp. (2)	Shark-solid acid + pure palmitic acid (70%) (30%)			
	↓					↓ (m. pt. $56^{\circ}$ )			
m. pt.	1 58.0	2 57.5	3 57.5	4 57.5		1 59.0	2 58.5	3 57.5	4 55.0
	↓					↓			
m. pt.	1 57.5	2 57.5	3 57.5			1 59.5	2 58.0	3 57.5	4 56.0

#### 2. Unsaturated acids.

The composition was determined as following system.





For each fraction of Br-fatty acids the experiment was taken as follows :

	Yield	Property	Found Br-content %	Calculated Br-content %
( I )	9.5	decomposed at 200°C	69.68	69.86 as $C_{18}H_{26}O_2Br_8$
( II )	4.0	m. pt. 178°C	64.03	63.32 as $C_{18}H_{30}O_2Br_6$
( III )	12.5	viscous	61.37	63.32 as $C_{18}H_{30}O_2Br_6$
( IV )	59.0	oily	35.58	36.18 as $C_{18}H_{34}O_2Br_2$

The original unsaturated acids of fraction (I), (II) and (IV) are respectively corresponded with Clupanodonic acid, Linoleic acid and Oleic acid; the fraction (III) absorbed some Iodin (Iodin value=4.35), so repeating the bromination, the obtained brom-compound showed 62.36 of Br-content, and changed so its property as melt at 40°C; I suppose the original acid of this Br-acid will be one new isomeric form of linoleic acid. On the ether soluble hexabrom-compound of linoleic acid, as a result of their studying Erdmann and Bedford (1909), determined such a linoleic acid is  $\beta$ -form.

### 3. Unsaponifiable matter.

This substance gave a yellow-white liquid, Iodin value 62.6; dissolved in four volumes of acetone, at cold temperature separated into the crystalline and non-crystalline parts.

Crystalline part:—

The fractional crystalization from alcohol solution made the three compound :

Fraction	Yield (g.)	m. pt. (°C)	m. pt. of acetate	Sap. value of acetate
( I )	14.3	146	114	113.00
( II )	2.4	59	—	—
( III )	0.7	51	oily	—

(I) correspond with cholesterol, (II), (III) will be respectively octadecyl- and cetyl alcohol.

Liquid part:—

The acetate compounds prepared by addition of acetic anhydride were fractioned in several parts by dry-distillation under 24 mm. pressure :

Fraction	Temp.	Yield (g.)	Sap. value	Iodin value	Iod. val. of original state
( I )	250	7	263.71	67.9	80.6
( II )	250~270	6	248.90	61.8	75.3
( III )	Residue	0.5	128.50	—	—

The characteristics of fraction (I) conform to those of selacyl alcohol ( $C_{21}H_{42}O_3$ ) discovered by Tsujimoto & Toyama from many Shark-liver oils. With regard to fraction (II), I suppose it will be the one unknown unsaturated alcohol as  $C_{22}$ .....,  $C_{24}$ ....., or those combination compound.

### Summary.

1. Fatty acids contain 21% of saturated acids, 79% of unsaturated acids: the saturated acids consist mostly of iso-palmitic acid, and small amount of stearic and palmitic acid.

2. The unsaturated acids consist of oleic acid (78%), linoleic acid (14%), and clupanodonic acid (6%); 80% of linoleic acid takes the one isomeric form, which hexa-form acid is soluble in ether.

3. Unsaponifiable matters contain cholesterol (40%), octodecyl alcohol (5.5%), cetyl alcohol (1.9%), selacyl alcohol (25%) and unknown alcohol (21%).

I wish to express my sincere gratitude to Prof. Dr. U. Suzuki and Prof. Dr. M. Yamakawa for the directions given me of this investigation.

## On the Study of Nitrogen, Phosphorus and Potassium Absorption and Utilization of Rice Plant at Different Stages of Growth by Means of Water Culture.

By

Yoshiaki ISHIZUKA.

(Received March 4, 1932.)

Experiment was conducted to study the nitrogen, phosphorus and potassium absorption and utilization of rice plant at different stages of growth by means of water culture for economical fertilization.

The following conclusions were reached.

1) The growth of rice plant was not hindered by the lack of nitrogen in nutrient solution till the 2nd week after the beginning of growth, if there was a supply of nitrogen after that time. When the supply of nitrogen failed after the 3rd week, the growth was hindered in spite of the immediate supply

of nitrogen after that time, so the ripening was not complete. But the apparent color recovery was very striking.

The growth was not hindered by the lack of phosphorus till the 3rd week after the beginning of growth if there was a supply of the same after that time. When the supply of phosphorus failed after the 5th week the growth was hindered in spite of the immediate supply of the same after that time.

The growth was not hindered by the lack of potassium in nutrient solution after the 5th week from the beginning of the growth provided there was a supply of the same after that time. When the supply of potassium failed after the 7th week the growth was hindered or the plants died in spite of immediate supply of the same after that time.

2) The existence of nitrogen in nutrient solution was necessary for rice plant till the 7th week after beginning of growth. The existence of nitrogen till the 9th week was sufficient for its perfect growth. So its growth will not be hindered by the lack of nitrogen after that time.

The existence of phosphorus was necessary till the 5th week after beginning of growth. The existence of the same till the 7th week was sufficient for its perfect growth. So its growth will not be hindered by the lack of phosphorus after that time.

The existence of potassium was absolutely necessary till the 9th week after beginning of growth. And furthermore the growth will be hindered by the lack of potassium after that time.

3) The degree of nitrogen and phosphorus utilization of rice plant was high at the earlier stages of growth and the later the first supply, the lower the degree of utilization. The maximum point of the degree of utilization was supposed to lie between the 3rd and 5th week after the beginning of growth.

In the case of potassium, though its existence was necessary through all stages of growth, the maximum utilization was supposed to be between the 4th and 5th week after the beginning of growth.

4) In the case of nitrogen fertilization of rice plant, it seemed to be expedient to supply nitrogen at the early stage of its growth so that it might absorb the total quantity of nitrogen, necessary for perfect growth, within 9 weeks.

In the case of phosphorus fertilization it seemed to be expedient to supply phosphorus at the early stages so that it might absorb the total quantity of phosphorus necessary for the growth within 7 weeks after beginning of growth.

In the case of potassium fertilization it seemed to be expedient to supply potassium throughout all stages of growth.

---



## Studies on the Yeast Growth.

By

Takeo SHIMODAIRA.

(Received March 5, 1932.)

The problem of the yeast growth was treated in the present investigation. When the amount of the pitching yeast in a certain fermenting solution is small, its yield calculated on the ratio to the pitching yeast cells, is considerably effected by the quantity of the initial cells. I have therefore adopted in my experiment relatively a large number of cells under which condition a slight difference between the quantities of the pitching yeast for a series of experiments insignificantly upon the ratio and the result can be undoubtedly determined.

I have undertaken at first to determine the most favorable concentration of sugar of Hayduck's solution and beer wort for the yeast growth and found 6~7% for the former and 15~16% for the latter.

---

## Researches on the Electrolytic Reduction Potentials of Organic Compounds. Part XIII.

Reduction Potential of Azobenzene.

By

Masuzo SHIKATA and Isamu TACHI.

(*Agricultural Chemical Institute, College of Agriculture, Kyoto Imperial University.*)

(Received April 10, 1932.)

### Summary.

(1) The electrolytic reduction potentials of azobenzene were measured by the polarographic method with the dropping mercury, stationary mercury and platinum cathode.

(2) From R. P. measured by the dropping cathode, the electrolytic reduction of azobenzene may be regarded as a reversible azohydraso system in the range of 1.2 to 5.0 by pH.

(3) R. P. measured by the stationary mercury cathode with a cathodic surface area of  $0.785\text{ mm}^2$  gave the same value as that of the dropping

cathode.

(4) The polarograms obtained with the stationary mercury cathode has always maximum and this maximum was due to the accumulation of the reduction product on the cathode.

(5) R. P. measured by the platinum cathode with a surface area of  $0.785 \text{ mm}^2$  were about  $150 \sim 200 \text{ mV}$  more negative than other two cases.

---

## Researches on the Electrolytic Reduction Potentials of Organic Compounds. Part XIV.

Reduction Potentials of Dinitrophenols.

By

Masuzo SHIKATA and Nobushige HOZAKI.

(Agricultural Chemical Institute, College of Agriculture, Kyoto Imperial University.)

(Received 10, April 1932.)

### Summary.

(1) The electrolytic reduction potentials of  $\alpha$ -,  $\beta$ - and  $\gamma$ -dinitrophenols were measured by the polarographic method.

(2) The reduction of dinitrophenols took place in two stages as dinitrobenzenes due to their two nitro groups.

(3) The reducibilities of dinitrophenols are arranged in order of  $\gamma > \beta > \alpha$  in the first stage and  $\beta > \alpha > \gamma$  in the second stage.

(4) The comparison of the reduction potentials of dinitrophenols, dinitrobenzenes, nitrobenzene and nitrophenols was made and their mutual relation was found to obey our negativity rule.

(5) The solubilities of dinitrophenols by the polarographic method at  $25^\circ \text{C}$  are as follows:

2,4 (or  $\alpha$ )-dinitrophenol :  $0.0865 \text{ g/L}$

2,6 (or  $\beta$ )-dinitrophenol :  $0.2853 \text{ g/L}$

2,5 (or  $\gamma$ )-dinitrophenol :  $0.1123 \text{ g/L}$

---

## Researches on the Electrolytic Reduction Potentials of Organic Compounds. Part XV.

Reduction Potentials of Nitranilines.

By

Masuzo SHIKATA and Eiichi TAGUCHI.

(*Agricultural Chemical Institute, College of Agriculture, Kyoto Imperial University.*)

(Received April 10, 1932.)

### Summary.

(1) The electrolytic reduction potentials (R. P.) of o-, m- and p-nitranilines were measured by the polarographic method.

(2) Since nitraniline is a weak base, the reduction in a suitable acidic solution took place in two stages, that is, the reductions of the dissociated and undissociated molecules.

(3) R. P. of dissociated molecules are more positive than those of undissociated molecules.

(4) On the reducibility of o-, m- and p-nitranilines, meta is more reducible than ortho and para. This may be due to alternating polarity of benzene ring.

(5) R. P. of ionic form of nitraniline is more reducible than nitrobenzene but R. P. of molecular form is less reducible than it, but m-derivative is an exception. We may suggest that  $\text{NH}_2$  group is electropositive.

---

## Chemical Researches on Bog-moss. Part I.

Chemical Composition of Sphagnum Fimbriatum, Wils.

By

Masuzo SHIKATA and Mamoru WATANABE.

(*At the Forest Products Laboratory, Depart. of Agric. Chemistry, Kyoto Imperial University.*)

(Received April 10, 1932.)

1. We determined the chemical composition of bog-moss which was produced at Karafuto Island, Japan.

2. Analytical method was briefly described, and the results of the analyses were discussed.



3. The bog-moss changed its colour by heating it in the thermostat at the temperature of 105°C.

4. The cellulose which was isolated by the usual chlorination method was partly carbonized in the same thermostat.

5. The amount of the cellulose separated by the usual chlorination method was far more than the residue of the alkali extract.

6. Therefore it is more advisable to apply the modified chlorination method, using 1% caustic soda solution in the determination of cellulose.

7. There was great difference in the amounts and the character of celluloses which were isolated by the above two methods.

8. We pointed out some different properties which were exhibited by moss and wood cellulose.

9. Lignin was also differed from that of wood in some respect.

10. The amount of alpha-cellulose was remarkably small. It is only 9 % against air dried sample.

---

## Biochemistry of Filamentous Fungi. I.

### Colouring Matters of *Monascus Purpureus* Went. Part I.

By

Hidejiro NISHIKAWA.

(Received March 28, 1932.)

### Résumé.

1. From the mycelial felt of *Monascus purpureus* Went cultured in a synthetic medium a crystalline colouring matter, monascorubrin,  $C_{22}H_{24}O_5$ , melting at 136°, was isolated in red prisms or needles. Its dihydrocompound is reddish yellow triangular platelets. These two substances have exceedingly high laevo-rotatory power. A crystalline bromo-derivative of monascorubrin was also prepared.

2. A smaller fraction of monascorubrin is converted into a crystalline yellow colouring matter, monascoflavin,  $C_{17}H_{22}O_4$ , melting at 145°, when the former is treated in an alcoholic solution with hydrogen peroxide. Monascoflavin can also be obtained from aged mycelium of *Monascus purpureus*. It crystallises in rhombic platelets. Its dihydro- and dibromo-derivatives are crystalline, while its monoacetyl derivative can not so far be obtained in crystalline form. Contrary to monascorubrin and its dihydro-derivative, monascoflavin and its dihydro-compound are strongly dextro-rotatory. Di-

hydromonascoflavin has phenolic properties.

3. Neither monascorubrin nor monascoflavin contains methoxyl group.

4. Monascorubrin on potash fusion produces with very poor yield a mixture of lower fatty acids among which caproic acid is most abundant and identified through its anilide. From the non-volatile portion of acidified fused material ether extracts a small quantity of a substance giving purple  $\text{FeCl}_3$  reaction.

5. Carbon skeleton of and structural relation between monascorubrin and monascoflavin are still obscure and their formulae are yet to be corroborated upon stronger experimental basis. So far the presence of a double bond, a  $\text{C}_6$  straight chain, and presumably a benzene nucleus in the monascorubrin molecule may be inferred from above. Further investigations are going on.

---

### On Soil-acidity and Electro-dialyzable Aluminium, Iron and Etc.

By

S. OSUGI and M. AOKI.

(Received April 23, 1932.)

#### Résumé.

It is well known fact that potassium chloride extract of acid-soil contains aluminium and iron in the amount corresponding to the acidity and yet it is not determined whether these aluminium and iron are primary product of base-exchange or not.

In order to investigate this question, the present authors made some experiments and the results will be reported as follows.

At first, the authors experimented that soil-acidity is much increased after the treatment of soil with a dilute solution of  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{AlCl}_3$ ,  $\text{CuCl}_2$  or  $\text{NiCl}_2$  and that the increase is almost parallel to the concentration of hydrogen ion of the solution.

The above result shows that the hydrogen ion of the solution plays much important role upon the increase of acidity.

The result of the electro-dialysis of the treated soil shows that the speed of extraction of aluminium and iron in the soil differs much from that of absorbed base and that most part of aluminium and iron dialyzed, deposits in the menbrane.

The behavior of aluminium hydroxide and ferric hydroxide added to soil

in the electro-dialysis, is similar to that in the treated soil.

The dialysis of acid-soil shows also similar result.

From these results, the authors may conclude that the state of aluminium and iron in acid-soil and in the treated soil is not same as absorbed bases and that they move as colloidal particles in electro-dialysis.

In the case of the soil treated with copper chloride or nickel chloride solution, most part of copper and nickel absorbed, is electro-dialyzed and the speed of dialysis is similar to that of absorbed base.

The authors found at the same time a great difference between these two cases, that is, in the former case (aluminium and iron), most part of metal dialyzed, deposits in the membrane and in the latter (absorbed base), the base is extracted in the cathode solution.

The authors conducted one more experiment to test the effect of anode acid solution upon the extraction of metal in the cathode solution by using two chambers (with anode solution) and three chambers cell (without anode solution) and found a distinct effect of anode solution and also greater effect with soil of stronger acidity and with metal of greater solubility in acid solution.

From these experimental results, the authors may conclude that in electro-dialysis, aluminium and iron in soil move primarily as colloidal particles and deposit in the membrane and only a small portion of them is extracted in cathode solution as a secondary product between colloid and anode acid solution.

## On the Nitrogenous Constituents of Rice-Vinegar.

By

Kotaro NISHIDA.

(Kagoshima Agricultural College, Kagoshima, Japan.)

(Received May 18, 1932.)

The rice-vinegar experimented with was prepared at Fukuyama, Kagoshima prefecture; and the general composition of the samples is as follows:—

	Sample (A)	Sample (B)
Specific gravity	1.0291	1.0248
	g. in 100 c.c.	
Crude protein	1.3706	1.4369
Protein	0.1127	—



Extract	4.5618	3.8344
Total acid (as acetic acid)	6.1172	5.7310
Volatile acid (as acetic acid)	5.4732	—
Non-volatile acid (as succinic acid)	0.6301	—
Reducing sugar (as glucose)	0.4200	—
Ash	1.3210	1.0572
Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	0.0344	0.0341
P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	0.0794	0.0627

The various forms of nitrogen in these samples were also determined:—

	Sample (A)						Sample (B)	
	Total N	Protein N	Non-Protein N				Total N	Ammonia N
			Total N	Ammonia N	Organic base N	Other N		
g. in 100 c.c.	0.2193	0.0180	0.2013	0.0285	0.0683	0.1045	0.2299	0.0225
Ratio (Total N as 100)	100.0	8.2	91.8	13.0	31.1	47.7	100.0	9.8

### Isolation and Identification of Organic Bases.

For the isolation of the organic bases 8 litres of the sample (B) were evaporated under reduced pressure to a small volume, almost equal to 1/4 of the original. After this operation the protein substance and other impurities were removed by lead acetate, and according to the general method researches were made about the organic bases, fractionally precipitated by phosphotungstic acid.

#### Phosphotungstic acid-precipitate I.

The first formed precipitate by phosphotungstic acid was fractionated into three fractions.

(1) PURINE BASE-FRACTION (AgNO<sub>3</sub>-Precipitate):—The yield of the base from this fraction was 0.40 g, as hydrochloride. Its picrate crystallised in characteristic hairly needles; greenish yellow, sparingly soluble in water, decomposed at 280~281°C (uncorr.). The chloraurate of the base formed golden yellow prisms, melted at 261°C (uncorr.) with decomposition.

0.1233 g. Subst.	0.0589 g. Au	47.77% Au
Calc. for Adeninechloraurate (C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>5</sub> ·2HCl·2AuCl <sub>3</sub> ·H <sub>2</sub> O)		47.35% Au

(2) ARGININE-FRACTION (AgNO<sub>3</sub> & Ba(OH)<sub>2</sub>-Precipitate):—The syrupy hydrochloride of the base obtained from this fraction was dissolved in cold absolute alcohol, and precipitated with saturated alcoholic solution of HgCl<sub>2</sub>. The yield of the base from the HgCl<sub>2</sub>-precipitate was 0.40 g. as hydrochloride. Its picrate formed greenish yellow prisms, hardly soluble in water, melted at 252°C (uncorr.) with decomposition. The chloraurate of the base formed

yellow prisms, decomposed at  $233^{\circ}\text{C}$  (uncorr.)

0.2382 g. Subst.	0.1215 g. Au	51.01% Au
Calc. for Putrescinechloroaurate ( $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{AuCl}_3$ )		51.35% Au

(3) LYSINE-FRACTION (Filtrate from  $\text{AgNO}_3$  &  $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -Precipitate):—

The hydrochloride, which was freed from water obtained by this fraction, was treated with cold absolute alcohol and separated as follows.

(a) Insoluble portion by cold absolute alcohol:—Yield; 0.80 g. Its picrate formed yellow prisms, decomposed at  $250\sim 251^{\circ}\text{C}$  (uncorr.). The chloroplatinate of the base crystallised in golden yellow thin plates, and gave the following analysis.

0.1230 g. Subst.	0.0486 g. Pt	39.51% Pt
0.1102 g. Subst.	0.0429 g. Pt	38.93% Pt
Calc. for putrescinechloroplatinate ( $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{PtCl}_4$ )		39.13% Pt

The above results agree fairly with putrescine derivatives.

(b) Dissolved portion by cold absolute alcohol:—Saturated alcoholic solution of  $\text{HgCl}_2$  was added to this portion, and 0.20 g. of the hydrochloride of the base from the  $\text{HgCl}_2$ -precipitate was obtained. Its picrate forms greenish yellow prisms, melted at  $253^{\circ}\text{C}$  (uncorr.) with decomposition. The chloroplatinate of the base was prepared in golden yellow thin plates.

0.2129 g. Subst.	0.0830 g. Pt	38.99% Pt
Calc. for Putrescinechloroplatinate ( $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot \text{PtCl}_4$ )		39.13% Pt

### Phosphotungstic acid-precipitate II.

The hydrochloride of the base freed from water obtained by this precipitate was treated with cold absolute alcohol and separated into two portions.

(1) INSOLUBLE PORTION BY COLD ABSOLUTE ALCOHOL:—Yield; 0.60 g. Its picrate forms light yellow prisms, hardly soluble in water, decomposed at  $252\sim 253^{\circ}\text{C}$  (uncorr.). The chloroaurate of the base forms yellow prisms, hardly soluble in water, melted at  $234^{\circ}\text{C}$  (uncorr.) with decomposition.

0.3230 g. Subst.	0.1657 g. Au	51.30% Au
0.2780 g. Subst.	0.1422 g. Au	51.15% Au
Calc. for Putrescinechloroaurate ( $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{AuCl}_3$ )		51.35% Au

(2) DISSOLVED PORTION BY COLD ABSOLUTE ALCOHOL:—Saturated alcoholic solution of  $\text{HgCl}_2$  was added to this portion and separated as follows.

(a)  $\text{HgCl}_2$ -Precipitate:—From the precipitate of  $\text{HgCl}_2$ , 0.20 g. of putrescinehydrochloride was crystallized out. Its picrate forms greenish yellow prisms, hardly soluble in water, decomposed at  $252\sim 253^{\circ}\text{C}$  (uncorr.). The chloroaurate crystallised in yellow prisms, hardly soluble in water, decomposed at  $233^{\circ}\text{C}$  (uncorr.).

0.3370 g. Subst.	0.1732 g. Au	51.39% Au
Calc. for Putrescinechloroaurate ( $\text{C}_4\text{H}_{12}\text{N}_2 \cdot 2\text{HCl} \cdot 2\text{AuCl}_3$ )		51.35% Au

(b) Filtrate from  $\text{HgCl}_2$ -precipitate:—0.10 g. hydrochloride of the base

was obtained from this portion. Its picrate forms yellow prisms, melted at 202°C (uncorr.). The chloroplatinate forms yellow thin plates, easily soluble in water, decomposed at 226°C (uncorr.).

0.0241 g. Subst.	0.0086 g. Pt	35.68% Pt
Calc. for Ornithinechloroplatinate ( $C_5H_{12}N_2O_2 \cdot 2HCl \cdot PtCl_4$ )		35.95% Pt

### Summary.

The yield of the nitrogenous compounds, isolated from 8 litres of rice-vinegar, is as follows.

Adenine (as hydrochloride)	0.40 g.	Putrescine (as hydrochloride)	2.20 g.
Ornithine ( " )	0.10 g.	Ammonia	2.19 g.

## On the Changes of Cyanamide in the Soil. II.

The Decomposition of Dicyanodiamide and Guanylurea in Paddy-soil.

By

Hisaji MURATA.

(The Kagoshima Imperial College of Agriculture and Forestry, Kagoshima, Japan.)

(Received May 24, 1932.)

### I. Introduction.

A previous investigation by the author (Nippon Nogeikwagaku Kwaishi and this Bulletin, 1930) showed that the formation of ammonia from cyanamide, mainly through urea, is almost same under both soil conditions, namely dry-field (normal soil) and paddy-field (water-logged soil). However, there is a noted difference in the water-logged soil when dicyanodiamide is transformed from cyanamide. Under the water-logged soil condition dicyanodiamide is comparatively easily ammonified, especially in the summer when the soil temperature is relatively high. The author has proved that this is the main reason for the special fertilizing value of dicyanodiamide upon the paddy-rice, in contrast to its harmful effect on ordinary farm crops.

Further studies on the decomposition of dicyanodiamide and its related compound, guanylurea, in water-logged soil have been carried out by the author, with the object of solving some of the problems regarding the unusual decomposition of nitrogenous compounds in paddy-soil.

### II. Influence of soil types, temperature, and soil treatment upon dicyanodiamide-decomposition in water-logged soil (with 5 tables in original paper).



1. 7 different soil samples from paddy-fields and dry-fields were tested under the water-logged condition, at the incubation temperature of  $30\sim 36^{\circ}\text{C}$ ; the ammonification of dicyanodiamide in above condition is a general phenomenon, influence of different soil types upon the dicyanodiamide decomposition is not distinct, but rather complicated, and largely depends on the soil treatment.

2. The optimum temperature for the ammonification of dicyanodiamide in water-logged soil is  $35\sim 45^{\circ}\text{C}$ . In Kagoshima section, during July and August, the temperature above  $30^{\circ}\text{C}$  prevail in the surface water and the soil surface of paddy-fields, and on cloudless days the temperature of the surface water occasionally reaches  $40^{\circ}\text{C}$ , hence the temperature that may be regarded as favorable for dicyanodiamide decomposition seems to be frequently attained in the paddy-soil during paddy-rice cultivation.

3. Air drying of the soil, whether exposed to direct sunlight under natural conditions, or in the diffused light of the laboratory, markedly increases the ammonifying power of the soil in a water-logged state, both for the soil organic nitrogen and the added dicyanodiamide. For example, the rate of ammonia-formation from dicyanodiamide in the water-logged condition by an air-dried soil was two times more than that by the fresh soil, being 10 mg. nitrogen per 100 g. dry soil in the former case against 4 mg. nitrogen in the latter, at the end of 6 weeks with an incubation temperature of  $30\sim 36^{\circ}\text{C}$ . The emission of a putrid smell always took place when the air-dried soils were incubated in a water-logged condition.

4. A preparatory treatment of the soil with toluene or ether, or the addition of 0.25% mercuric chloride to the water-logged soil, nearly stops the ammonification of dicyanodiamide in the water-logged condition, at  $25\sim 28^{\circ}\text{C}$ . The presence of 0.125% mercuric chloride in the water-logged soil, however, does not completely suppresses this action at the same temperature.

### III. Mechanism of the decomposition of dicyanodiamide (with 10 tables).

1. The formation of guanylurea from dicyanodiamide was noticed when the soil was partially sterilized. From this fact it seems that, in the course of the ammonification of dicyanodiamide, at least some portion of the dicyanodiamide would be converted to guanylurea as an intermediate product. The conversion of dicyanodiamide to guanylurea is probably brought about by a purely chemical (or physico-chemical) process, such as hydrolysis, but not by living micro-organisms, while the formation of ammonia from guanylurea in water-logged soil may be due to the agency of active micro-organisms. Whether, however, the intermediate production of guanylurea from dicyano-

diamide by nonmicrobial agency is the decisive factor for the ammonification of dicyanodiamide in water-logged soil, or the direct ammonification of dicyanodiamide by microbial activity is the main process of dicyanodiamide-decomposition, is not yet clear. The affirmation of this question needs further investigation.

2. Guanylurea is well absorbed by the soil, but the large parts of guanylurea in the soil are leached by the author's method of soil extraction, the method being the treatment of the soil with ferric sulphate solution and lime powder previous to the filtration.

3. The separate determination of dicyanodiamide and guanylurea in the soil may be accomplished by the treatment of the soil sample with copper sulphate solution etc., as dicyanodiamide alone appears in the filtrate, and guanylurea remains in the soil residue.

4. A marked difference in the rate of ammonification of guanylurea between normal soil and water-logged soil is noted, as in the case of dicyanodiamide. Guanylurea, examined in the forms of sulphate and phosphate, is very slowly ammonified in the normal soil condition, as already pointed out by Jacob and others (*J. Agr. Res.*, 1924.), while it is relatively rapidly decomposed in water-logged soil, its ammonification being more rapid than that of dicyanodiamide.

5. It is of interest to find the variation of dicyanodiamide decomposing power by the same paddy-field soil in different season of the year. The soil, which was taken in February from a paddy-field under fallowing in the normal soil condition, ammonified only 5 mg. of dicyanodiamide nitrogen per 100 g. dry soil within 30 days at incubation temperature of 26~28°C when it was brought to the water-logged condition immediately after it was taken from the field, while, in September, when the field was in the later stage of paddy-rice cultivation (It was maintained in a flooded condition for nearly 3 months) the same soil ammonified 8.5 mg. of dicyanodiamide nitrogen per 100 g. of dry soil within 21 days at the same incubation temperature. This difference in the dicyanodiamide-decomposing power may be more largely due to the effect of the soil aeration or the water-logging to which the paddy-field was subjected and less to the mere seasonal difference. The "Kan-den", that is the paddy-field having good drainage, is usually flooded only during the season of paddy-rice cultivation (that is, from early summer to autumn), and after that time (from fall to spring), the field is in the normal soil condition. In the laboratory trials, similar results were obtained with regard to the influence of soil aeration and water-logging upon the dicyanodiamide-decomposing power of a soil. A soil kept in normal soil condition for a month has shown a strong retarding tendency for the dicyanodiamide-decomposition

in the water-logged condition. The longer the period during which the soil was subjected to water-logging, the more the dicyanodiamide-decomposing power was increased.

6. The relations of soil cultivation system and soil treatment to the ammonification of guanylurea in water-logged soil are quite identical to that of dicyanodiamide decomposition. Comparing two soil samples, taken in September from different plots in the same field (the normal soil plot under buckwheat and the paddy-soil plot under paddy-rice), a marked difference was observed in the rate of guanylurea-ammonification in the two soils. With the addition of 10 mg. guanylurea-nitrogen per 100 g. dry soil the rate of ammonification was only 2.6 mg. by the normal soil against 8.3 mg. by the paddy-soil (both in a water-logged condition) after 20 days incubation at  $26 \sim 28^{\circ}\text{C}$ . A more striking reduction in the guanylurea-ammonifying power in the water-logged condition was observed when the paddy-soil sample was stored under normal soil condition (at a moisture content of one-half saturation) for 2 months, in a wide-mouthed bottle with cotton plug, in the laboratory. The stored samples had a tendency to grow more acid and the pH value decreased from 6.0 to 4.7 after 2 months, when it was brought to a water-logged condition and incubated at  $26 \sim 28^{\circ}\text{C}$ , it did not show the guanylurea-ammonifying power at all even after 30 days.

From these facts, it may be said that, the prolongation of a liberal aerobic condition in the normal soil state is detrimental to the agency for the guanylurea-ammonification process. On the arable soil of the ordinary farm, however, the soil condition that may be regarded as harmful for the guanylurea-ammonifying agency will not be present over long periods but will be effected by frequent rainfalls and temporary drying of the surface soil, etc.. Consequently, most soils always show, to some degree, the guanylurea-ammonifying power, when the soils are brought to a water-logged condition.

7. The guanylurea-decomposing power of the soil, which was weakened or almost lost by subjecting the soil to aerobic, normal, soil conditions, was gradually restored by the addition of calcium carbonate when the soil was water-soaked, thus increasing the decreased pH value of the soil; where the addition of 0.5 g. calcium carbonate per 100 g. dry soil was made, the pH value of the soil quickly rose from 4.7 to 6.2, and to 7.3 after 30 days incubation. The weakened guanylurea-ammonifying power of the soil was, also, restored without increasing the pH value, but simply inoculating the soil with the paddy-soil (5 g./100 g.), which was kept in the water-logged condition for a long time.

From above results, it can be assumed that the improvement of the guanylurea-ammonifying power of the soil should not be ascribed merely to



the modification of the pH value of the soil, but may be explained by the oxidation-reduction potentials of the soil. Under an environmental condition of a high oxygen tension, where pH is markedly raised, the partial sterilization of soil seems to take place, thus destroying certain species of the guanylurea-ammonifying micro-organisms.

#### IV. Conclusion.

In the majority of water-logged soils, dicyanodiamide is ammonified at the usual summer temperature.

In the course of the ammonification of dicyanodiamide, at least some portion of dicyanodiamide is converted into guanylurea as an intermediate decomposition product.

The environmental conditions, under which the soil is subjected prior to the incubation of water-logged state, greatly affect the ammonification of dicyanodiamide and guanylurea. In an environment of a high oxygen tension, the partial sterilization of soil seems to take place and destroys certain species of dicyanodiamide and guanylurea-ammonifying micro-organisms.

---



昭和七年六月七日印刷

昭和七年六月十日發行

東京帝國大學農學部內  
發行兼編輯者 松 山 芳 彦

東京帝國大學農學部內、日本農藝化學會  
印刷者 丸 田 秀 三

東京帝國大學農學部內  
印刷所 日本農藝化學會印刷部



